

Identifikasi Penyebab Diare di Kabupaten Karangasem, Bali

I N. Sujaya*, N.P. Desy Aryantini**, N.W. Nursini**, S.G. Purnama*, N.M.U. Dwipayanti*, I G. Artawan*, I M. Sutarga*

Abstrak

Pada Februari hingga Maret 2008 terjadi kejadian luar biasa muntah berak (diare) di Kabupaten Karangasem Bali. Tercatat sekitar 600 orang mengalami muntaber dan 5 orang meninggal dunia. Ini merupakan kejadian KLB muntaber pertama kali di Bali serta belum diketahui patogen penyebab diare tersebut. Tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi penyebab diare di Karangasem serta kemungkinan rantai penularannya. Penelusuran penyebab KLB dilakukan dengan menganalisis sampel air yang diambil dari sumber air umum, cubang/sumur penduduk, bahan makanan, serta *rectal swab* penderita dengan kombinasi teknik pemupukan kuman dan PCR spesifik dengan target gen pembentuk toksin pada *Escherichia coli*. Dengan melakukan kultur pada sampel makanan diperoleh bahwa 11 dari 21 sampel makanan positif mengandung *E. coli*. Dari sampel yang positif *E. coli*, 2 sampel yang diambil di rumah penderita muntaber terdeteksi gen pembentuk shiga like toxin tipe I dan II pada *E. coli*. Deteksi gen pengkode shiga like toxin tipe I juga terdeteksi pada penderita dan beberapa sampel air dari cubang penduduk. Hal ini menunjukkan bahwa *E. coli* pembentuk shiga like toxin tipe I merupakan penyebab KLB di Karangasem. Lebih lanjut diperoleh bahwa pita shiga like toxin tipe I dan tipe II. *E. coli* strain Karangasem berbeda dengan strain EHEC sehingga strain Karangasem ini kemungkinan merupakan strain *E. coli* patogen baru yang terjadi akibat perubahan genetik pada *E. coli* pembentuk shiga like toxin yang ditemukan di Bali.

Kata kunci : Diare, *Escherichia coli*, shiga like toxin

Abstract

In February to March 2008, Bali was shocked by the outbreak of diarrhea in Karangasem District, Bali. It was recorded that 600 people were having diarrhea and 5 people were died due to the disease. This outbreak was the first time happened in Bali and the causing pathogen was not yet identified. The aim of this study was to identify the causing pathogen of diarrhea in the outbreak case in Karangasem, as well as to identify the possible transmitting pathway. The tracking of outbreak cause was carried out by analyzing water sample taken from communal clean water source, private clean water reservoir, food sample, as well as rectal swab of the patient with the combination of pathogen enrichment technique and specific PCR with *Escherichia coli* as the target of toxin forming agent. Based on the culture growth from food samples, it was found that 11 from 21 samples were *E. coli* positive. From samples that *E. coli* positive, 2 samples that were taken from patient's house were detected a shiga like toxic forming gene, type I and II on the *E. coli*. The similar shiga like toxin forming gene type I was also detected on samples from patient and samples from water of private family cubang. This shows that *E. coli* that forms shiga like toxin type I was the diarrhea causing pathogen in this particular outbreak in Karangasem. Furthermore, it was found out that the ribbon formed by shiga like toxin type I and II differ from the strain of EHEC. Thus, it is possible that the strain found in Karangasem was a new strain of *E. coli* pathogen due to genetic transformation on shiga like toxin forming *E. coli* that was found in Bali.

Key words : Diarrhea, *Escherichia coli*, shiga like toxin

*Program Studi Ilmu Kesehatan Masyarakat Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Jl. Panglima Besar Sudirman, Denpasar, Bali (e-mail: inengah_sujaya@yahoo.com)

**UPT Laboratorium Terpadu Biosain dan Bioteknologi Universitas Udayana, Jl. Panglima Besar Sudirman, Denpasar, Bali

Bali merupakan daerah tujuan wisata nasional maupun internasional. Munculnya kasus-kasus keracunan akibat patogen akan berimplikasi kepada pariwisata Indonesia. Dalam rentang waktu 2005-2007, berdasarkan data BPOM Denpasar telah terjadi 20 kasus keracunan akibat konsumsi bahan pangan, sebanyak 656 orang mengalami keracunan dengan 2 orang meninggal dunia dari total 1.733 penderita. Penyakit ikutan bahan pangan (*Foodborne diseases*, FBDs) ini sebagian besar disebabkan oleh konsumsi bahan pangan yang tercemar oleh mikroorganisme patogen yang dapat menyebabkan infeksi ataupun intoksikasi.

Keracunan karena konsumsi bahan pangan tercemar oleh bakteri patogen merupakan masalah global, terjadi di negara-negara berkembang yang umumnya ditandai dengan keadaan sanitasi dan higiene yang kurang, tetapi dapat juga terjadi di negara-negara maju dengan sanitasi yang baik dan teknologi pengolahan pangan yang modern. Kejadian keracunan/gastroenteritis di Amerika diperkirakan terjadi satu dalam 1000 orang penduduk. Beberapa patogen umum yang telah dikenal sejak puluhan tahun yang lalu telah dapat dikontrol dengan baik, tetapi di lain pihak bermunculan patogen baru. Hal ini menyebabkan penanganan masalah FBDs masih substansial terbatas pada sub-populasi tertentu yang berkaitan dengan perilaku dan kebiasaan konsumsi bahan pangan yang berbeda.^{1,2}

Tendensi perkembangan FBDs sangat berkaitan dengan globalisasi serta diseminasi bahan pangan antar negara.³ Penggunaan zat antibiotika adalah kecenderungan lain yang mengakibatkan perkembangan patogen baru. Munculnya *Campylobacter jejuni* merupakan akibat penggunaan *floroquinolon* untuk mengontrol penyakit dan hormon pertumbuhan pada peternakan ayam.⁴ Demikian juga dengan kemunculan strain baru *Salmonella* pada peternakan sapi akibat penggunaan *chealosporins*.⁵ *Listeria monocytogene* menyerang sub-populasi tertentu akibat kebiasaan mengkonsumsi produk mentah tanpa pasteurisasi.⁶

Fakta menyebutkan penyebab FBDs masih banyak merupakan patogen baru yang belum pernah dideskripsikan sebelumnya, disamping 17 jenis patogen yang sudah umum diketahui.¹ Selain itu, metode yang dipergunakan dalam penelusuran penyebab FBDs juga memiliki keterbatasan, yaitu tidak dapat mengantisipasi kejadian FBDs yang semakin bervariasi dan disebabkan oleh patogen baru (*new emerging* atau *re-emerging pathogens*). Patogen yang baru muncul atau muncul kembali telah beradaptasi pada lingkungan serta kondisi ekologi yang baru, hal ini berdampak terhadap lebih ganasnya tingkat keracunan dari patogen sebelumnya. Sehingga, untuk dapat mengantisipasi perubahan ini diperlukan teknik diagnostik yang cepat dan akurat guna penanganan yang lebih baik dan untuk mencegah meluasnya

wabah.

Analisis cecaran patogen pada bahan pangan serta dalam etiologi penyakit keracunan akibat konsumsi bahan pangan memerlukan waktu yang panjang serta hasil yang terkadang kurang akurat. Walaupun beberapa metode deteksi ini telah memenuhi standar seperti: standar ISO 6579 (*Salmonella*),⁷ ISO *Listeria monocytogene* (ISO 10560),⁸ *thermotolerant Campylobacter* (ISO 10272),⁹ O157(ISO 16654),¹⁰ *Staphylococci* (ISO 6888), tetapi memerlukan waktu berminggu-minggu untuk menumbuhkan mikroba patogen serta identifikasi secara fisiologis. Disamping itu, sering ditemukan sel mikroba patogen mengalami stres pada saat penyiapan dan pengolahan bahan pangan seperti yang terjadi pada *Campylobacter spp.* sehingga sel tidak bisa ditumbuhkan pada media pertumbuhan.¹¹

Sejak diperkenalkan pada pertengahan 1984, PCR merupakan metode yang sangat cepat, sensitif dengan akurasi yang tinggi dalam mendeteksi mikroba patogen bila dibandingkan dengan metode konvensional. Standarisasi beberapa metode deteksi patogen utama penyebab keracunan konsumsi bahan pangan telah dilakukan dengan tujuan untuk validasi dan standarisasi metode deteksi patogen utama pada 5 patogen utama: *Salmonella spp.*, *thermophilic Campylobacter spp.*, *Enterohaemorrhagic E. coli*, *L. monocytogenes* dan *Yersinia enterocolitica*.¹² Keunggulan lainnya adalah PCR memungkinkan mendeteksi gen spesifik pada organisme walaupun berada dalam komunitas mikroorganisme di alam atau bahan pangan bahkan dalam keadaan mikroorganisme patogen mati sekalipun. Hal ini telah dilakukan untuk mendeteksi gen pengkode enterotoksin, sitotoksin, dan gen *adhesi* pada *E. coli*.¹³⁻¹⁵ Ini memberikan peluang aplikasi metode molekuler pada laboratorium sederhana di negara-negara berkembang di mana kasus-kasus keracunan akibat konsumsi bahan pangan sering terjadi.

Pemahaman yang sudah kuat dibidang deteksi molekuler patogen penyebab FBDs serta adanya *data base* tentang susunan primer dan pelacak DNA yang spesifik dengan berbagai gen target, merupakan kesempatan untuk menelusuri penyebab KLB muntaber yang cukup mengejutkan di Karangasem Bali. Kejadian ini begitu mencekam dan mengkhawatirkan masyarakat karena lebih dari 600 orang yang terjangkit muntaber. Di sisi lain, KLB ini secara ilmiah dipandang unik karena baru pertama kali terjadi di Bali dengan pola penyebaran yang begitu cepat sehingga sangat penting dilakukan penelusuran tentang agen penyebab KLB muntaber tersebut serta kemungkinan rute penyebarannya. Dengan demikian, hasil penelitian ini sangat diperlukan sebagai data pendukung dalam penanganan yang diperlukan serta memotong jalur penularannya.

Metode

Sampel dan Materi Biologis

Sampel penelitian ini adalah *rectal swab* dari penderita dan kelompok kontrol, air, makanan yang diambil dari rumah penderita, pasar Sidemen, dan ikan pindang di pusat pembuatan ikan pindang di Kusamba. Sebelum melakukan *rectal swab*, subjek diberikan penjelasan (*inform concern*) mengenai maksud dan tujuan pengambilan sampel. Materi biologis yang dipergunakan adalah *Escherichia coli* ATCC 4394 dan *Escherichia coli* DB24 yang merupakan *strain* EHEC isolat lokal Bali yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana.

Teknik Penanaman

Penelusuran penyebab KLB muntaber dilakukan dengan pendekatan kultur dan teknik deteksi molekuler dengan target gen spesifik. Berdasarkan laporan penelitian sebelumnya oleh Dinas Kesehatan Kabupaten Karangasem dan Propinsi Bali, diduga bahwa *Escherichia coli* patogen sebagai penyebab KLB muntaber. Sehingga, penelusuran difokuskan pada *E. coli* dan pada tahap awal deteksi dilakukan dengan target utama gen penyandi toksin pada *E. coli*.

Sampel (*rectal swab* dari penderita dan kontrol, sampel air dan makanan) dibiakkan (*enriched*) dalam *Lactose broth* (LB, Pronadisa, France) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk mengetahui ada tidaknya *coliform* yang mati melalui terjadinya pembentukan gas pada tabung Durham. Setelah dilakukan inkubasi populasi *coliform* dihitung dengan mempergunakan teknik *most probable number* (MPN). Sampel yang mengandung *coliform* (positif pembentukan gas) kemudian digores pada media *Eosin Methylene Blue* (EMBA, Oxoid) untuk mengetahui ada tidaknya *E. coli*. Adanya *E. coli* ditandai dengan adanya koloni berwarna hijau metalik. Hanya sampel yang positif mengandung *E. coli* selanjutnya dilakukan pendeteksian gen pembentuk toksin dengan mempergunakan primer yang spesifik.

Deteksi Molekuler *E. coli* Patogen

Sebanyak 100 µl kultur cair dengan *E. coli* positif dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf 2,000 µl dan selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 5.000 rpm selama 5 menit pada suhu 5°C. Massa sel yang diperoleh dicuci dengan TE *buffer* pH 8, selanjutnya dilisis pada larutan mengandung 1% Triton X-100 (Sigma) dalam *buffer* TE pH 8. Lisis dilakukan dengan pemanasan pada air mendidih selama 15 menit dan selanjutnya dibekukan dalam *freezer* -20°C selama 15 menit. Pemanasan dan pembekuan dilakukan sebanyak 3 kali dan selanjutnya 1 µl suspensi dipergunakan sebagai sumber DNA (*template*) pada PCR. Primer yang diper-

gunakan adalah dengan menargetkan gen virulensi: *shiga like toxin*. Pasangan primer dengan target *shiga like toxin* tipe I (Stx1): LP-30: CAG TTA ATG TGG TGG CGA AGG dan LP-31: CAC CAG ACA ATG TAA CCG CTG; *shiga like toxin* tipe II (Stx2) dengan pasangan primer LP43: ATC CTA TTC CCG GGA GTT TACG dengan LP-44: GCG TCA TCG TAT ACA CAG GAG C dengan ukuran produk PCR yang akan dihasilkan untuk gen stx1 dan stx2 berturut-turut 348bp dan 584bp.¹⁶⁻¹⁸

Reaksi PCR dilakukan pada total volume 12,5 µl yang mengandung: 10 mM masing-masing dNTPs, *primer forward* dan *reverse* masing-masing 25 pmol, 1X PCR Buffer II, 75 mM MgCl₂, 0,45 U *AmpliTag*, 1 µl DNA. Semua *reagen* yang dipergunakan untuk analisis molekuler adalah *molecular grade*. Reaksi amplifikasi dilakukan sebagai berikut: satu kali siklus pada 94°C selama 5 menit, diikuti dengan 40 kali siklus pada 94°C selama 30 detik, 48°C selama 30 detik, dan 72°C selama 30 detik. Tahap akhir ditambahkan dengan satu kali siklus pada suhu 72°C selama 5 menit. Produk PCR selanjutnya dielektroforesis dengan menggunakan 1% agarosa dengan 1X TAE bufer, dilakukan pewarnaan dengan EtBr (50 ng/ml), divisualisasikan pada UV iluminator dan difoto.

Sampel yang memberikan hasil positif pada PCR ditumbuhkan pada EMBA dan koloni yang berwarna hijau metalik diisolasi dan dimurnikan. Isolat yang diperoleh diamplifikasi/PCR kembali dengan primer yang sama dan selanjutnya disimpan dalam stok beku (-20°C pada larutan gliserol 15%) untuk keperluan penelitian masa yang akan datang.

Untuk menentukan apakah KLB disebabkan oleh *Enterohaemorrhagic Escheichia coli* (EHEC) yang umumnya membentuk *shiga like toxin* atau *verotoxin*, maka koloni yang positif PCR stx ditumbuhkan pada media MacConkey agar (Oxoid) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Koloni yang tumbuh selanjutnya disebar pada permukaan Sorbitol McConkey Agar (SMAC, Oxoid). Pertumbuhan dalam 24 jam diamati. Ciri khas EHEC adalah ketidakmampuannya untuk memfermentasi sorbitol sehingga koloninya akan nampak berwarna putih. Sebaliknya, selain EHEC akan berwarna merah muda karena kemampuannya memfermentasi sorbitol.

Hasil

Escherichia coli merupakan flora normal pada manusia dan hewan. Tetapi, beberapa strain *E. coli* dapat bersifat patogen sehingga keberadaan *E. coli* pada bahan pangan dan air dipakai sebagai salah satu indikator pencemaran dan keamanan bahan pangan dan air.¹⁹ Hasil analisis mikrobiologis pada sampel makanan (Tabel 1) menunjukkan bahwa dari 21 sampel

Tabel 1. Deteksi *E. coli* pada Sampel Makanan

Sampel	Lokasi Sampling	<i>E. coli</i> (EMBA)	PCR Stx1
Sambal	Duda Utara	-	ND*
Pepes pindang	Duda Utara	+	+
Sayur Mie dan Buncis	Duda Utara	+	+
Kacang Rebus	Jungutan	-	ND
Pindang	Subudi	-	ND
Teri (Tr2)	Subudi	+	-
Teri (Tr1)	Subudi	+	-
Labu siam putih 2 Bbn (Ls2)	Bebandem	+	-
Labu siam hijau 1 Bbn (Ls1)	Bebandem	-	ND
Pindang Bbn 1	Bebandem	+	+
Pindang Bbn 2	Bebandem	+	-
Pindang Bbn 3	Bebandem	+	-
Terasi Bbn 1	Bebandem	-	ND
Sudang Bbn 1 dan 2	Bebandem	-	ND
Ayam Bbn	Bebandem	+	-
Kangkung Bbn	Bebandem	-	ND
Pindang Ksmb 1	Kusamba	-	ND
Pindang Ksmb 2	Kusamba	-	ND
Pindang Ksmb 3	Kusamba	+	-
Pindang Ksmb 4	Kusamba	+	+
Pindang Ksmb 5	Kusamba	-	ND

*ND: *not determined* (hanya EMBA positif yang dilanjutkan dengan PCR stx1)

Tabel 2. Deteksi *E. coli* pada Sampel Air

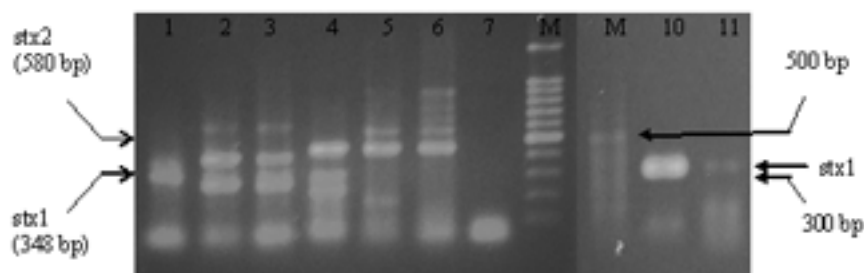
Sampel	Lokasi	MPN/100 ml	<i>E. coli</i> EMBA	PCR Stx1
Sumber Air	Duda Utara	$3,6 \times 10^0$	+	+
Sumur Gali SI (*)	Duda Utara	$< 3 \times 10^0$	-	ND*
Sumur Gali dengan Pompa	Duda Utara	$> 2,4 \times 10^3$	+	+
Sumur Gali NS (*)	Duda Utara	$> 2,4 \times 10^3$	+	+
Pipa Distribusi dari Embung Pasar Agung	Subudi	$3,9 \times 10^1$	+	+
Embung Pasar Agung	Subudi	$9,1 \times 10^1$	+	+
Cubangan MK (*)	Subudi	$1,1 \times 10^3$	-	ND
Cubangan KW (*)	Subudi	$2,1 \times 10^2$	+	+
Cubangan WW (*)	Jungutan	$4,3 \times 10^1$	-	ND
Cubangan NMS (*)	Jungutan	$> 2,4 \times 10^3$	+	+
Cubangan, Kontrol 3 dan 4	Jungutan	$> 2,4 \times 10^3$	-	ND
Cubangan	Jungutan	$< 3 \times 10^0$	+	+
Sumber Air Perangsari	Puskesmas (PDAM)	$< 3 \times 10^0$	-	ND
Air sumur pembuat ikan pindang	Kusamba	$> 2,4 \times 10^3$	+	ND
Air sumur pembuat ikan pindang	Kusamba	$9,1 \times 10^0$	-	ND
Air got pembuat ikan pindang	Kusamba	$> 2,4 \times 10^3$	+	ND

*ND: *not determined* (hanya EMBA positif yang dilanjutkan dengan PCR stx1)

makanan yang diambil sebanyak 11 sampel positif membentuk gas dan mengandung koloni warna hijau metalik pada media EMBA (keberadaan koloni spesifik *E. coli*) dan 10 tidak terlihat pertumbuhan koloni dengan warna hijau metalik (tidak mengandung *E. coli*). Sampel makanan yang diambil dari rumah penderita muntaber (sampel nomor 1-5 pada Tabel 1), terdeteksi bahwa 2 sampel yang positif mengandung *E. coli* menunjukkan hasil yang positif pada PCR *shiga like toxin* tipe 1 (stx1). Kedua sampel tersebut adalah pepes ikan pindang dan sayur. Di lain pihak, sampel makanan yang diambil dari pasar Desa Bebandem (nomor 6-16, Tabel

1), ditemukan 7 sampel positif *E. coli* dari 10 sampel yang diambil dan dari sampel yang positif *E. coli* hanya satu sampel ikan pindang menunjukkan hasil positif dengan PCR stx1. Untuk penelusuran dari sumber pembuatan ikan pindang di Kusamba, diambil sebanyak 5 sampel dari pedagang yang berbeda. Hasil analisis cemaran *E. coli* dengan EMBA menunjukkan sebuah sampel positif stx1 dari 2 sampel positif tercemar *E. coli*.

Penelusuran juga dilakukan dengan mengambil sampel air yang ada di daerah kejadian dan sumber air yang menuju ke daerah KLB seperti sumber air PDAM dan



Gambar 1. Gel Elektroforesis PCR Gen stx1 dan stx2 pada Isolat *E. coli* yang Diisolasi dari Sumber Air Cubang dan Pasien KLB Muntaber Karangasem

Ket :

- * Panel 1,2,3 masing-masing adalah isolat dari cubang (1), dari pasien 1 (panel 2), pasien 2 (panel 3) yang di PCR dengan LP30/LP31 untuk target gen stx1.
- * Panel 4, 5, 6 masing-masing adalah isolat dari cubang (4), pasien 1 (panel 5), pasien 2 (panel 6) yang di PCR dengan LP43/LP44 untuk target gen stx2.
- * Panel 7: kontrol negatif (tanpa DNA); M: ukuran standar 100 bp;
- * 10: gen stx1 pada *E. coli* ATCC 4394
- * 11: gen stx1 pada strain *E. coli* EHEC DB24 (10 dan 11 merupakan kontrol positif).

cubang umum yang dipakai oleh masyarakat. Dari 16 sampel air yang diambil, 10 tercemar *E. coli* dan 6 sisanya hanya positif pembentukan gas dengan kandungan *coliform* yang tinggi tetapi tidak tercemar *E. coli* (Tabel 2). Sebanyak 8 sampel (50% dari total sampel air) positif terdeteksi *E. coli* dengan stx1. Pada Tabel 2 juga terlihat bahwa tidak semua air yang diambil dari sumur/cubang penduduk yang salah satu atau lebih anggota keluarganya menderita muntaber menunjukkan adanya cemaran *E. coli*. Hal ini disebabkan karena sebelum pengambilan sampel, sumber air penduduk telah dikaporitasi oleh petugas Puskesmas Selat.

Dari PCR isolat yang diisolasi dari subjek dan air menunjukkan hasil yang konsisten terbentuknya pita stx1 dengan menggunakan primer SLP-1. Ini menguatkan bahwa *E. coli* yang memproduksi *shiga like toxin* I merupakan penyebab KLB muntaber di Karangasem (Gambar 1).

Hasil konfirmasi isolat yang diperoleh dari air dan *rectal swab* yang ditumbuhkan pada SMAC menunjukkan bahwa semua isolat dapat memetabolisme sorbitol yang ditandai dengan koloni berwarna merah muda pada koloni isolat *E. coli*. Hal ini menunjukkan bahwa penyebab KLB bukanlah EHEC O157:H7. Hal ini didukung oleh observasi bahwa tidak ada pasien yang diare disertai darah (*haemorrhagi*).

Pembahasan

Shiga like toxin 1 terdeteksi dari *rectal swab* penderita yang sedang berada di Puskesmas Selat, sehingga menguatkan dugaan bahwa kejadian muntaber disebabkan oleh *E. coli* pembentuk *shiga like toxin* 1. *E. coli* diketahui membentuk 2 jenis *shiga like toxin*, yaitu tipe

I (stx1) dan II (stx2).²⁰ Dari hasil penelusuran menunjukkan bahwa terdeteksi stx1 dan stx2, tetapi pita yang terbentuk oleh primer spesifik stx2 mempunyai ukuran nukleotida yang lebih pendek (sekitar 100 bp lebih pendek dari ukuran gen stx2 pada EHEC).¹⁶ Hal ini memberikan gambaran dan dugaan bahwa memang telah terjadi mutasi dan penghapusan nukleotida pada gen stx2 pada *E. coli* Karangasem, sehingga *E. coli* Karangasem ini merupakan strain yang baru muncul (*new-emerging E. coli*).

Diduga bahwa rantai penyebaran *E. coli* patogen yang menyebabkan KLB muntaber di Karangasem berasal dari ikan pindang. Di daerah seperti Duda, Subudi, Selat, Bebandem dan sekitarnya dimana KLB terjadi, pasar tempat masyarakat membeli bahan makanan dibuka dalam siklus tiga hari dalam seminggu sehingga masyarakat cenderung membeli bahan pangan khususnya lauk pauk untuk kebutuhan selama minimal tiga hari. Dengan fasilitas penyimpanan bahan pangan yang kurang memadai ditambah di beberapa desa Duda, Subudi, Selat dan Bebandem air sangat sulit diperoleh menyebabkan semakin buruknya kondisi higiene dan sanitasi. Hal ini berkontribusi terhadap penularan patogen.

Tempat pembuatan pindang di Kusamba merupakan sentra produksi ikan pindang dan distribusi pindang ke beberapa daerah di Bali. Ikan pindang didistribusikan dalam bakul/keranjang bambu atau tong dari logam/seng tanpa penutup dan pendingin yang memadai ke daerah-daerah pemasaran di sekitar pulau Bali. Hal ini tidak dapat melindungi ikan pindang dari kontaminasi silang yang terjadi baik pada saat penanganan dan pengangkutan. Dengan demikian, perilaku penjamah pin-

dang merupakan salah satu faktor yang perlu mendapatkan perhatian untuk mencegah terjadinya kontaminasi silang oleh bakteri patogen yang bersumber dari manusia untuk mencegah terjadinya KLB di masa yang akan datang.

Higiene perseorangan adalah upaya kesehatan dengan cara memelihara dan melindungi kebersihan individu. Sedangkan, penjamah makanan adalah individu yang menjamah makanan, baik dalam mempersiapkan, mengolah, menyimpan, mengangkut, maupun dalam menyajikan makanan. Pengetahuan, sikap dan perilaku seorang penjamah mempengaruhi kualitas makanan yang dihasilkan. Penjamah makanan mempunyai hubungan yang erat dengan masyarakat konsumen, terutama penjamah makanan yang bekerja di tempat pengolahan makanan untuk umum. Dari seorang penjamah makanan yang tidak baik, penyakit dapat menyebar ke suatu masyarakat konsumen.

Kesimpulan

E. coli yang memproduksi SLT1 (*shiga like toxin* tipe 1, non O157:H7) teridentifikasi sebagai penyebab diare di Karangasem. Ikan pindang diduga menjadi mata rantai dalam transmisi *E. coli* patogen tersebut.

Saran

Berbagai usaha yang harus dilakukan oleh penjamah makanan untuk menciptakan higiene perseorangan yang baik, antara lain: menjauhkan makanan dan minuman dari sentuhan jari-jari tangan, menggunakan sapu tangan bersih jika menyeka muka atau lengan, menggunakan sapu tangan bersih untuk menutup mulut waktu batuk atau menutup hidung waktu bersin dan sesudahnya diharuskan mencuci tangan dengan menggunakan sabun, menggunakan pakaian seragam, bila sakit sebaiknya tinggal di rumah dan sebelum bekerja atau setelah buang air kecil diharuskan mencuci tangan dengan memakai sabun sampai bersih

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh subjek yang telah memberikan akses yang baik dalam pengambilan sampel, Puskesmas Selat, Pemuka Desa Bebandem dan Selat Duda, Mahasiswa PS. IKM Unud yang terlibat dalam penelusuran wabah ini serta semua anggota POKJA KLB PS. IKM Unud. Penulis juga mengucapkan tarima kasih ke pada Drh. W. Suardana, M.Si., yang telah memberikan koleksi kultur *E. coli* ATCC 4394 serta strain *E coli* EHEC DB24 yang dijadikan strain referensi pada penelitian ini.

Daftar Pustaka

1. Taux RV. Emerging foodborne pathogens. *Int J Food Microbiol.* 2002; 78: 31-41.

2. Mead P and Mintz E. Ethnic eating: foodborne diseases in the global vil-lage. *Infect. Dis. Clin. Parct.* 1996; 5: 319-25.
3. Rodrigue DC, Taux RV, Rowe B. Internacional increase in Salmonella enteritidis: a new pandemic? *Epid Infect.* 1990; 105: 21-7.
4. McDermott PE, Bodeis SM, English LL, White DG, Wagner DD. High level cyfloxaxine MICs develop rapidly in campylobacter jejuni follow-ing treatment of chickens with sarafloxin. American Society fo Microbiology, 101st Anual Meeting. Orlando, Florida: ASM Press, Washington DC; 2001. p. 742.
5. Dunne EF, Fey PD, Kludt P, Reporter R, Mostashari F, Shillam P, et al. Emergente of domestically acquired ceftriaxone-resutant Salmonella infections associated with AmpC ?-lactamase. *J. Am. Med. Assoc.* 2000; 284: 3151-6.
6. Slutsker L, Evans MC, Schuchat A. Listeriosis. In: Scheld WM, Craig W, Huges J, editors. *Emerging Infections*. Vol. 4. Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 2000. p. 85-106.
7. Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizontal method for detection of Salmonella (ISO 6579:1993). Geneva, Switzerland: International organization for standardization; 1993a.
8. Milk and milk products-detection of Listeria monocytogenes (ISO 10560:1993). Geneva, Switzerland: International organization for stan-dardization; 1993b.
9. Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizontal method for detection of thermotolerant Campylobacter (ISO 10272:1995). Geneva, Switzerland: International organization for standardization; 1995.
10. Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for detection of Escherichia coli O157:H7 (ISO 16654:2001). Geneva, Switzerland: International organization for standardization; 2001.
11. Rollins DM and Colwell RR. Viable but notculturable Campylobacter jejuni and its role in survival in the natural aquatic environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 1986; 52: 531-8.
12. Wang RF, Cao WW, Cerniglia CE. A universal protocol for PCR detec-tion of 15 species of foodborne pathogens in foods. *J Appl. Microbiol.* 1997; 85: 727-36.
13. Olive DM. Detection for enterotoxigenic Escherichia coli after poly-merase chain amplification with thermostable DNA polymerase reac-tion. *J. Clin. Microbiol.* 1989; 27: 261-5.
14. Olsvik O, Wateson Y, Lund A, and Hornes E. Pathogenic Escherichia coli found in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 1991; 12: 103-14.
15. Gannon VPJ, Rashed M, King RK, Thomas E/JG. Detection and charac-terization of the eae gene of shiga toxin producing Escherichia coli using polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.* 1993; 31: 1268-74.
16. Cebula TA, Payne WL, Feng P. Simultaneous identification of strains of Escherichia coli serotype O157:H7 and their shiga like toxin type by mismatch amplification mutation assay multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.* 1995; 33: 248-50.
17. Paton AW and Paton JC. Detection and characterization of shiga toxi-genic Escherichia coli using multiplex PCR assays for stx1, stx2, eaeA, enterohemorrhagic E coli hlyA, rfbO111, and rfbO157. *J. Clin. Microbiol.* 1998; 36: 598-602.
18. Paton AW and Paton JC. Direct detection and characterization of shi-gatoxigenic E coli by multiplex PCR for for stx1, stx2, eaeA, ahxA, and saa. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40: 271-4.

19. Doyle M and Padhye VV. *Escherichia coli*. In: MP Doyle, editor. Foodborne bacterail pathogens. New York, NC: Mercel Dekker; 1989. p. 235-81.
20. O'Brien AD and Holmes RK. Shiga and shiga-like toxins. *Microbiol. Rev.* 1987;51:206-20